

PREPARACIÓN DEL SUELO PARA LA REPLANTACIÓN Y CONVERSIÓN A ECOLÓGICO DE UN HUERTO DE CÍTRICOS: EFECTOS EN SU FERTILIDAD BIOLÓGICA Y ESTADO FITOSANITARIO

¹ Centro para el Desarrollo de la Agricultura Sostenible. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (CDAS-IVIA).

² Estación Experimental Agraria de Carcaixent. Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (EEAC-IVIA)

1. OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es evaluar los cambios que se producen en diversos parámetros relacionados con la actividad biológica y estado fitosanitario del suelo tras la aplicación de algunas prácticas habituales en la preparación de parcelas antes de realizarse una replantación. Es un estudio llevado a cabo en un huerto de cítricos con un largo historial de ataques por *Phytophthora* la cual comenzó a manejarse de modo ecológico tras su replantación.

2. INTRODUCCIÓN

Disponer de un suelo con un alto contenido en materia orgánica y una elevada actividad biológica resulta clave para el correcto funcionamiento de todo cultivo. Efectivamente, la cantidad y calidad de la materia orgánica de un suelo, junto con la capacidad de los microorganismos presentes en él para descomponerla, va a determinar la disponibilidad de nutrientes para la planta tanto a corto como a largo plazo. Igualmente, el incremento de la

materia orgánica y la estimulación de las comunidades microbianas favorecen la formación de agregados, mejorando la estructura del suelo y, como consecuencia, facilitando su aireación y mejorando sus propiedades hídricas. Así mismo, la supresividad, o capacidad de un suelo para controlar la actividad de organismos fitopatógenos presentes en él, se debe a mecanismos totalmente dependientes de la actividad biológica, de manera que un aumento de dicha actividad va a suponer una mejora en su estado sanitario.

Sin embargo, prácticas habituales en agricultura convencional, como la explotación intensiva, el laboreo frecuente o la aplicación sistemática de fertilizantes minerales, herbicidas y fungicidas, tienen un efecto reductor en ambos parámetros. En la zona Mediterránea, donde además las condiciones climáticas favorecen la rápida disminución de la materia orgánica, parcelas sometidas a años de manejo convencional a menudo se enfrentan a una dramática reducción en su fertilidad, importantes pérdidas en su producción y una aparición sistemática de enfermedades.

El presente trabajo se enmarca dentro del proyecto europeo BIO-INCROP: "Innovative cropping techniques to increase soil health in organic fruit tree crops" (FP7 ERA-Net CORE Organic II, Coordinación de Investigación Transnacional Europea en Alimentación Ecológica y Sistemas de Cultivo), cuyo objetivo es mejorar el estado de explotaciones frutales con

claros síntomas de agotamiento, a partir de un manejo sostenible del suelo. Para ello se han adaptado prácticas conocidas por su efectividad en otros agrosistemas al cultivo de frutales, en concreto a manzano y cítricos. Es por ejemplo el caso de la fertilización orgánica, cuyo efecto positivo en multitud de cultivos está ampliamente demostrado. Los aportes orgánicos, o bien de restos de cultivo o de compost, aumentan el contenido de materia orgánica y estimulan la actividad y diversidad microbianas. Del mismo modo, las cubiertas vegetales resultan una opción interesante no sólo por su uso como abono verde, si no por la gran cantidad de exudados radiculares con capacidad de estimulación biológica que producen y por las sustancias con efecto desinfectante (isotiocianatos derivados de glucosinolatos, por ejemplo) que se encuentran en algunas especies y que resultan de gran interés para reducir el desarrollo de enfermedades.

Este estudio recoge los resultados de un experimento realizado durante tres años en una parcela de cítricos en fase de reconversión a cultivo ecológico, donde previamente a la plantación de los árboles se ensayaron distintas formas de preparación del suelo. El efecto de los tratamientos sobre el contenido de materia orgánica y distintas propiedades relacionadas con la vida del suelo y sobre su estado sanitario fue evaluado con el objetivo final de desarrollar prácticas que potencien su mejora y conservación, en otras palabras, que permitan un manejo sostenible del suelo.

3. MATERIAL Y METODOS

3.1 Diseño experimental

El ensayo se ha realizado en una finca privada localizada en Gandía (Valencia). Se trata de una vieja explotación con un historial de más de cien años cultivando cítricos, un suelo muy compactado y un amplio registro de ataques del hongo del suelo *Phytophthora* spp. En una parcela de 1,2 ha se arrancó el arbolado para establecer una nueva plantación de naranjo (*Citrus sinensis*, var. *Salustiana*) sobre Citrange carrizo (*C. sinensis* x *Poncirus trifoliata*) con manejo ecológico. Previamente a la plantación se realizaron cuatro alternativas de tratamientos del suelo:

- Solarización (S). Método desinfectante en el que el suelo fue cubierto con plásticos de polietileno transparente de 300 galgas de espesor durante los meses de verano, la correcta elevación de la temperatura fue monitorizada mediante sondas electrónicas.

- Cubierta vegetal biodesinfectante (CV). Se aplicó una cubierta vegetal compuesta por una mezcla de especies conocidas por sus capacidades desinfectantes: *Sinapis alba*, a una dosis de semilla de 16,5 Kg/ha, *Brassica carinata*, *B. rapa* y *B. juncea* a una dosis de 25 Kg/ha cada una. Las densidades fueron notablemente superiores a las recomendadas habitualmente debido a la tardía siembra impuesta por el calendario de los trabajos.

- Enmienda orgánica (EO). Se utilizó estiércol de ovino a una dosis equivalente a 16,7 t/ha, en peso fresco. Esta dosis, combinada con las aplicaciones de fertilizantes autorizados que se hicieron posteriormente en cobertura, es inferior al máximo de aplicación de N permitido en agricultura ecológica en base a un periodo de tres años, tiempo de duración del ensayo.

- Solarización y enmienda orgánica (S+EO). La combinación de la solarización con la aplicación de estiércol se realizó con el objetivo de potenciar el efecto desinfectante del calor con el

efecto producido por los gases resultantes de la degradación de la materia orgánica. Así mismo, se pretendía paliar posibles efectos adversos que las altas temperaturas pudieran tener en la actividad microbiana general del suelo.

Los cuatro tratamientos fueron comparados con un control sin tratar (C) y todos ellos fueron evaluados por triplicado en subparcelas experimentales posteriormente replantadas con ocho árboles cada una (marco de plantación de 6 x 4 m), tal y como se observa en la Figura 1.

3.2 Parámetros evaluados

Para obtener una visión integrada del efecto de los tratamientos en el conjunto de las propiedades del suelo, se realizó una caracterización fisicoquímica y química completa, se estudiaron indicadores bioquímicos representativos de la actividad metabólica general y de la actividad de enzimas relacionadas con los ciclos de los principales nutrientes y se analizaron parámetros microbiológicos relacionados con relevantes comunidades microbianas. Todo ello fue complementado con un estudio sobre la capacidad infectiva de *Phytophthora* spp., elegido como indicador del estado sanitario del suelo por ser el principal patógeno fúngico en agricultura ecológica de cítricos en la Comunidad Valenciana.

Se realizó un primer muestreo de suelo tras la finalización de los tratamientos y antes de la replantación, y dos muestreos posteriores: seis y doce meses más tarde. En cada ocasión se tomaron 16 submuestras por cada sub-

parcela a 0-30 cm de profundidad y se procedió a la caracterización química, bioquímica y microbiológica. Los parámetros químicos y fisicoquímicos fueron analizados mediante los métodos oficiales del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 1986). La caracterización bioquímica incluyó el análisis del contenido de carbono de la biomasa microbiana, de la actividad enzimática de la fosfomonoesterasa alcalina, de la fosfodiesterasa, de la ureasa, de la arilsulfatasa, de la β -D-glucosidasa, de la quitinasa y de la deshidrogenasa, así como el análisis del potencial de oxidación de amonio. La caracterización microbiológica se realizó a diferentes niveles de especificidad: a nivel global, determinando con recuento en placa la densidad bacteriana, fúngica y de actinomicetos; a nivel funcional, con la determinación del número más probable de bacterias nitrificantes y desnitrificantes y a un nivel específico de género, con el recuento de bacterias promotoras del crecimiento vegetal: bacterias tipo *Bacillus* y *Pseudomonas* fluorescentes.

El impacto de los tratamientos en el estado fitosanitario del suelo fue evaluado realizando dos tipos de bioensayos: bioensayo de potencial infeccioso y bioensayo de receptividad. El bioensayo de potencial infeccioso evalúa la capacidad de un suelo naturalmente infestado para inducir la enfermedad, empleando un huésped sensible y las condiciones ambientales óptimas para el desarrollo del patógeno. De este modo, en cada una de las ocho submuestras de suelo proveniente de una subparcela se trasplantaron tres plántulas de limón rugoso. Tras tres semanas de crecimiento en condiciones de

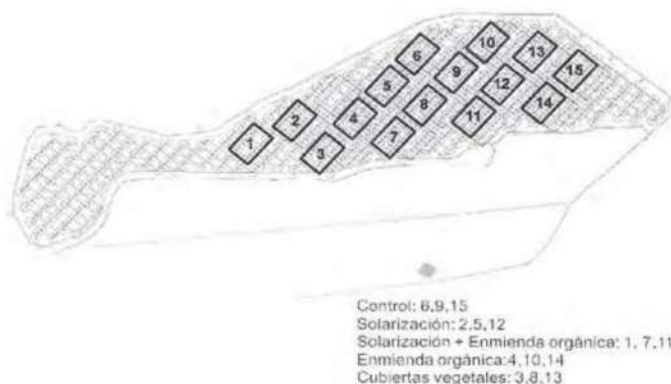


Figura 1.
Diseño experimental del ensayo.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica y química del suelo un año después de la aplicación de los tratamientos.

	pH (1:5)	CE (dS/m)*	MO (%)	NO (%)	NO ₃ ⁻ (mg/kg)	C/N	P (ppm)	CO ₃ ²⁻ (%)	CA (%)	SAT (%)	Ca ²⁺ (meq/l)*	Mg ²⁺ (meq/l)*	Na ⁺ (meq/l)*	K (meq/l)*	HCO ₃ ⁻ (meq/l)*	Cl ⁻ (meq/l)*	SO ₄ ²⁻ (meq/l)*
C	8,08	2,24bc	1,66bc	0,109	15,1b	8,85	41,9	44,0	9,17	39,5	15,0b	4,07	1,66	1,43ab	2,15	2,90	1,79
S	8,17	1,34a	1,41a	0,090	6,03a	9,97	41,4	43,7	9,05	37,7	8,89a	2,59	1,94	0,856a	2,41	3,07	2,67
S+EO	8,23	1,45ab	1,63bc	0,099	6,60a	9,52	51,1	44,7	8,51	35,8	8,79a	2,70	1,91	1,66ab	2,72	2,86	3,36
EO	8,08	2,52c	1,75c	0,109	15,6b	9,36	49,8	44,6	9,05	36,5	16,3b	4,47	2,27	1,94b	2,19	4,09	2,98
CV	8,19	1,48ab	1,55ab	0,099	7,19a	9,09	43,3	43,9	9,37	38,0	9,65a	2,87	1,94	0,847a	2,33	3,37	2,64
F-test	NS	<0,05	<0,05	NS	<0,01	NS	NS	NS	NS	NS	<0,05	NS	NS	<0,05	NS	NS	NS

* Valores medidos en extracto de saturación. CE: conductividad eléctrica, CA: caliza activa, SAT: porcentaje de saturación. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a $P < 0,05$.

temperatura y humedad óptimas para el desarrollo de *Phytophthora* spp., se contabilizaron las plantas que presentaron síntomas de marchitamiento, comprobándose la presencia del hongo con aislamientos en medio selectivo PARBPH. El bioensayo de receptividad evalúa la capacidad tamponante de un suelo frente a la entrada de un patógeno, por lo que el suelo es inoculado artificialmente con el organismo de interés. La especie elegida fue *P. nicotianae*, que junto con *P. citrophthora* son los principales agentes causales de los ataques debidos a *Phytophthora* en cítricos en la Comunidad Valenciana (Álvarez *et al.*, 2008). Las ocho submuestras de suelo provenientes de una subparcela fueron mezcladas para componer una única muestra, donde un total de 30 plántulas de limón rugoso fueron trasplantadas e inoculadas con dosis de 2,5 10³ zoosporas/planta (A), 5 10² zoosporas/planta (M) y 10² zoosporas/planta (B), a razón de 10

plantas por dosis. El análisis también se realizó con suelo procedente de la parcela y esterilizado en autoclave, que actuó como control abiótico (AB). De forma similar al bioensayo de potencial infeccioso, las plantas se mantuvieron tres semanas en condiciones óptimas para el desarrollo de la enfermedad.

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Caracterización química, bioquímica y microbiológica del suelo

Los resultados han mostrado un claro efecto negativo de la solarización sobre la materia orgánica del suelo. Ya desde la finalización de los tratamientos, el contenido en materia orgánica se vio significativamente reducido de 1,80% en el control a 1,46% en el tratamiento de solarización. Esta reducción se mantuvo incluso un año después con porcentajes que descendie-

ron de 1,66% (C) a 1,41% (S) (Tabla 1). Igualmente, y pese a aportar cantidades similares de estiércol, el contenido fue menor en el tratamiento que combinó estiércol con solarización que aquel en el que se aplicó únicamente estiércol: 1,62% S+EO y 1,79% EO en el primer muestreo y 1,63% S+EO y 1,75% EO en el último muestreo (Tabla 1).

Pero este efecto negativo no solo ha afectado a la cantidad de materia orgánica, la capacidad del suelo de transformarla en nutrientes disponibles para la planta también se ha visto seriamente alterada. En efecto, enzimas implicados en distintos ciclos de nutrientes han sido claramente deprimidos como indica la caracterización bioquímica. Desde el primer muestreo las actividades enzimáticas de la fosfomonoesterasa, fosfodiesterasa, ureasa, arilsulfatasa y β -D-glucosidasa fueron reducidas en los tratamientos con solarización y solarización combinada



Plante con las mejores garantías

Viveros Citroplant, S.L., es un Vivero de cítricos, autorizado y regulado por el Ministerio de Agricultura, para la producción de plantones de cítricos sobre pies tolerantes a la tristeza e injertos libres de virus.

Estamos utilizando las más avanzadas tecnologías, con dos sistemas de cultivo, Tierra e Hidropónico para obtener la mayor calidad en nuestros plantones.

Sistema Hidropónico

Ventajas:

- Estrés al transplante menor
- Crecimiento inicial mucho mayor
- No es necesario el despunte de la planta
- Ideal para doblados y reposiciones
- Porcentaje de faltas cero o nulo



Valencia Midnight Seedless
Powell Summer Navel®
Valencia Delta Seedless
Navel Fukumoto
Clemenrubi®
Navel Chislett
Satsuma Iwasaki

Nuestra oferta varietal comprende:

Mandarinos, Naranjos, Limoneros, Limas, Pomelos y Patrones

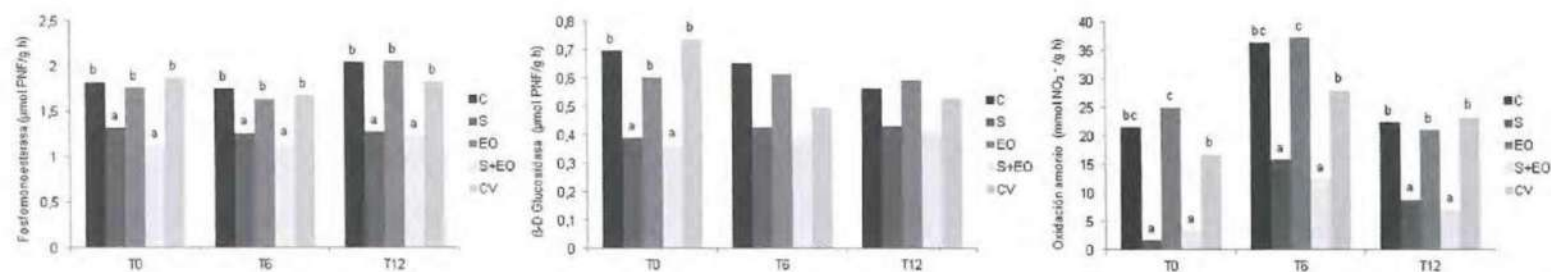


Figura 2. Actividades enzimáticas: fosfomonoesterasa, β-D-glucosidasa y potencial de oxidación de amonio. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a $P < 0,05$.

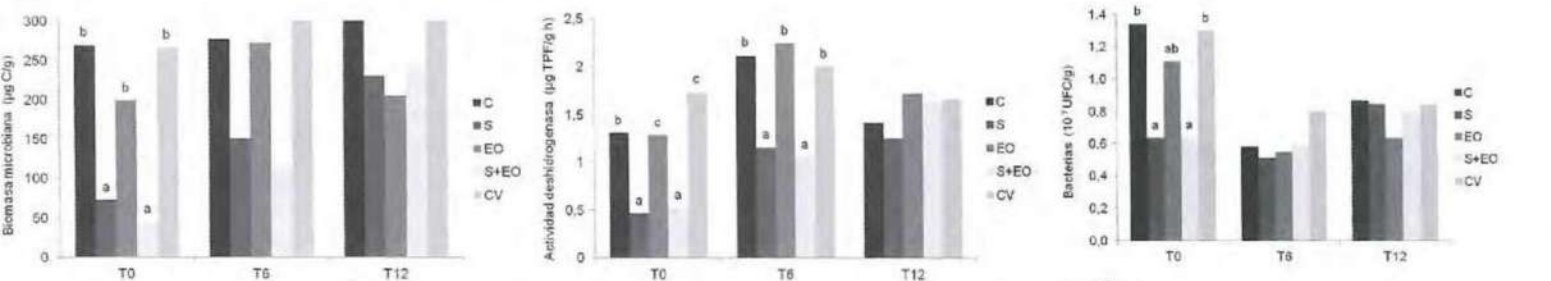


Figura 3. Biomasa microbiana y actividad deshidrogenasa. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a $P < 0,05$.

con estiércol (Figura 2). Este efecto se mantuvo incluso un año después, quedando ligeramente atenuado en el caso de la fosfodiesterasa, ureasa y β-D-glucosidasa (Figura 2). Los tratamientos de aporte de estiércol sin solarización y el de cubiertas vegetales no produjeron alteraciones en la actividad de estos enzimas, lo que indicaría que las condiciones particulares que se dan durante la solarización son las responsables de los cambios en los tratamientos S y S+EO. Las altas temperaturas y la elevada humedad de las primeras etapas de la solarización favorecerían la extracción de enzimas estabilizadas en la matriz del suelo, siendo posteriormente degradadas e inactivadas por el intenso calor generado a lo largo de todo el proceso.

Asimismo, la solarización afectó al contenido de nitratos del suelo. Pese a que tras la aplicación de los tratamientos se observó la habitual liberación tras una solarización, especialmente cuando se acompañó de estiércol, un año después los niveles en S y S+EO fueron significativamente inferiores al control (Tabla 1), además el suelo perdió capacidad para recuperarse de dicha reducción debido a la disminución en el potencial de oxidación de amonio (Figura 2), parámetro indicador de la actividad nitrificante de los microorganismos del suelo, por lo que su reducción implica una menor mineralización del nitrógeno orgánico y de producción de nitratos.

La actividad biológica también se vio afectada por los tratamientos aplicados. La biomasa microbiana fue drásticamente reducida con los tratamientos que incluían solarización, aunque el efecto se fue atenuando con el tiempo (Figura 3). De igual modo, la actividad deshidrogenasa, indicadora de la actividad microbiana global, resultó negativamente afectada (Figura 3). Por el contrario, las cubiertas vegetales potenciaron la actividad microbiana inicialmente, aunque el efecto no se mantuvo con el tiempo (Figura 3). Esta estimulación podría ser debida a la persistencia de exudados radiculares producidos por la cubierta vegetal, que desaparecerían más tarde al pasar el tiempo suficiente para su degradación. La adición de estiércol de oveja no produjo en ningún momento cambios significativos ni en la biomasa ni en la actividad deshidrogenasa, contrariamente a lo esperado.

Las poblaciones microbianas del suelo también se vieron alteradas por los tratamientos, aunque la significación estadística de los resultados se vio muy afectada por la elevada variabilidad de dichas poblaciones en los suelos agrícolas. De nuevo, la existencia o no de solarización parece ser el factor más determinante para los cambios. En el primer muestreo, la comunidad bacteriana global y las poblaciones de *Pseudomonas* fluorescentes (Figura 4) y de bacterias amonio oxidantes se redujeron significativamente

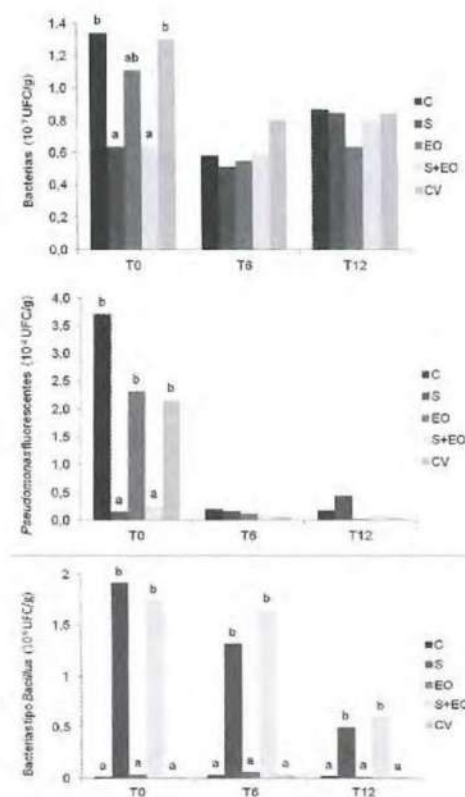


Figura 4. Comunidad bacteriana total, *Pseudomonas* fluorescentes y bacterias tipo *Bacillus*. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a $P < 0,05$.

aunque se recuperaron con rapidez. Las poblaciones de organismos termotolerantes del tipo *Bacillus* fueron favorecidas por las altas temperaturas alcanzadas en la solarización, efecto que se mantuvo incluso un año tras la aplicación (Figura 4).

Así, los resultados obtenidos en las caracterizaciones físicoquímica, bioquímica y microbiológica muestran que los tratamientos ensayados no son suficientes para aumentar el contenido de materia orgánica del suelo, ni para estimular su actividad biológica. La solarización ha destacado por su impacto negativo persistente incluso un año después de su aplicación. Este efecto depresor es de especial relevancia ya que no sólo afecta a

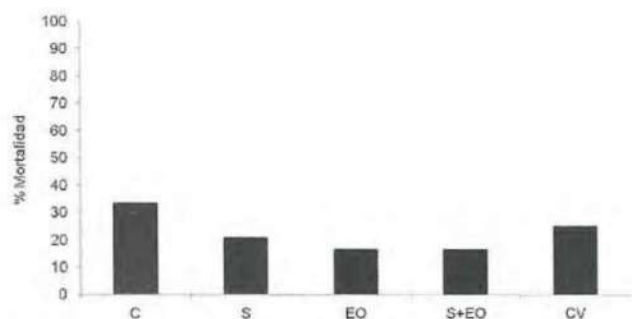


Figura 5. Bioensayo de potencial infeccioso: porcentaje de mortalidad medio por tratamiento.

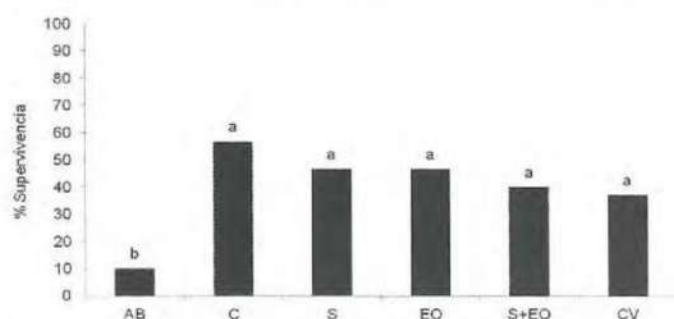


Figura 6. Bioensayo de receptividad, dosis media: porcentaje de supervivencia medio por tratamiento. Valores seguidos de la misma letra no son estadísticamente diferentes según el test MDS a $P < 0,05$.

microorganismos vivos si no que modifica la actividad de componentes orgánicos estabilizados en la fracción orgánica del suelo, los cuales necesitan más tiempo para su recuperación.

4.2 Estado fitosanitario del suelo

Los tratamientos no afectaron al desarrollo de *Phytophthora* presente de forma natural en la parcela, como mostró el bioensayo de potencial infeccioso. La marchitez debida a éste hongo se manifestó tanto en el control como en cada uno de los cuatro tratamientos, incluso en aquellos conocidos por sus propiedades desinfectantes: solarización, solarización mas estiércol y cubiertas vegetales biodesinfectantes (Figura 5).

El bioensayo de receptividad reveló la existencia de una supresión biótica natural frente a *Phytophthora*, es decir, los microorganismos presentes en el suelo eran capaces de frenar el desarrollo del patógeno introducido. En efecto, en el suelo no esterilizado, el porcentaje de plantas sanas tras inocular *Phytophthora* resultó ser superior al porcentaje obtenido en el suelo esterilizado (Figura 6). La esterilización habría eliminado la flora microbiana beneficiosa existente en el suelo y permitiría una mayor instalación del patógeno y desarrollo de la enfermedad. Este resultado fue igualmente apoyado por el hecho de que el control sin inocular causó naturalmente un 33,4% de mortalidad, sin producir ninguna planta enferma una vez esterilizado.

Sin embargo, los tratamientos aplicados no modificaron dicha supresividad. *Phytophthora* es un hongo que puede completar varios ciclos de vida en un año, con una elevada capacidad de multiplicación, de modo que en condiciones de humedad y temperatura adecuadas es capaz de generar eleva-

das concentraciones de inóculo incluso a partir de niveles iniciales muy bajos. Para que los tratamientos hubieran sido capaces de modificar la supresividad del suelo, deberían de haber producido cambios profundos y perdurables en la microbiota, como por ejemplo potenciando mecanismos de competición general o promoviendo el desarrollo de organismo antagonistas a *Phytophthora*. No obstante esto no sucedió, como ya avanzó la caracterización microbiológica, donde tan sólo un año después de los tratamientos, la actividad y densidad microbianas habían recuperado sus niveles iniciales. Los resultados concuerdan con una prueba que se realizó previamente en la misma parcela empleando productos comerciales de base biológica para fomentar la actividad microbiológica del suelo, donde dichos productos no produjeron ninguna mejoría en el estado fitosanitario de los árboles. Formulados biofertilizantes o tratamientos puntuales del suelo en preplantación parecen no ser suficientes para el control de *Phytophthora* en explotaciones cítricas. Una estrategia que buscara construir la calidad biológica del suelo de forma progresiva y continuada podría ser más efectiva.

5. CONCLUSIONES

El contenido de materia orgánica del suelo y altos niveles de actividad biológica en éste son de enorme importancia en la disponibilidad de nutrientes, estructura y supresión de enfermedades, de modo que su incremento resulta clave para un manejo sostenible del suelo. No obstante, ninguno de los tratamientos ensayados ha conseguido aumentar el nivel de materia orgánica ni incrementar la actividad microbiana, en algunos casos porque una aplicación puntual no tiene el alcance suficiente. Es más, nuestros resultados sugieren que la solarización,

recomendada por ser eficaz en la lucha contra patógenos del suelo, puede producir efectos negativos duraderos en la matriz orgánica y vida del suelo que deben de ser tenidos en cuenta especialmente en agricultura ecológica. Los tratamientos tampoco mejoraron la supresividad del suelo frente a *Phytophthora*. El control de este patógeno en citricultura ecológica es una tarea difícil que parece necesitar de prácticas que construyan calidad biológica de forma continuada en lugar de tratamientos puntuales. Estrategias a largo plazo y sistemas mixtos que por ejemplo combinaran cubiertas vegetales y aplicaciones de materia orgánica, podrían ser una interesante opción para construir suelos fértiles y sanos.

6. AGRADECIMIENTOS

El autor reconoce y agradece el apoyo financiero para este proyecto provisto por las organizaciones financiadoras de CORE Organic II, socios del proyecto FP7 ERA-Net CORE Organic II (Coordinación de Investigación Transnacional Europea en Alimentación Ecológica y Sistemas de Cultivo, proyecto no. 249667). Más información en www.coreorganic2.org. El texto en este artículo es responsabilidad única del autor y no refleja necesariamente las opiniones de las organizaciones nacionales que han financiado este proyecto. El trabajo de María López está financiado por el IVIA y cofinanciado por el Fondo Social Europeo, Programa Operativo 2007-2013.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Alvarez L.A., Vicent A., De la Roca E., Bascón J., Abad-Campos P., Armengol J., García-Jiménez J. 2008. Branch cankers on citrus trees in Spain caused by *Phytophthora citrophthora*. *Plant Pathology* 57, 84-91.
- MAPA. 1986. Métodos Oficiales de Análisis. Tomo III (Plantas, productos orgánicos fertilizantes, suelos, aguas, productos fitosanitarios, fertilizantes inorgánicos). Madrid.